Relatório Final

# Automatização do processo de medidas de um microscópio óptico

Aluno: Rafael Cintra Hensel Ferreira R.A. 092684
rafael_hensel x(arroba)x msn.com

Orientadores: Mônica Alonso Cotta monica x(arroba)x ifi.unicamp.br
João Hermes Clerici clerice x(arroba)x ifi.unicamp.br

# Relatório Final

# Automatização do processo de medidas de um microscópio óptico


## Resumo

A observação de micro-organismos pode ser realizada, em condições mais naturais, por um microscópio óptico invertido. Porém se este equipamento vem de fábrica com um estágio porta amostra manual, isto torna o processo de análise demorado. Para que esse processo seja otimizado realizou-se um projeto de automatização do estágio porta amostra.


## Introdução

Em um microscópio invertido (figura 1) as fontes de luz e do condensador estão localizadas na parte superior do estágio apontando para baixo, enquanto a objetiva e o “turret” se localizam abaixo do estágio apontando para cima. A amostra é colocada na parte superior do estágio e o tubo binocular ou trilocular não está de “cabeça para baixo”, mas numa posição que aponta para um ângulo de visão, como um microscópio convencional.

A vantagem de se utilizar um microscópio invertido é que devido a sua configuração pode-se observar micro-organismos ou toda uma cultura em um recipiente relativamente grande em condições mais naturais e menos estressantes do ponto de vista bioquímico, além da possibilidade de realizar micromanipulações na amostra. Por outro lado se o estágio de translação é manual, este processo de análise é bem lento e demanda até alguns dias para uma única condição de crescimento da cultura. Este projeto de instrumentação consiste na automatização do estágio que facilitaria o trabalho e permitiria a automatização do processo.

Figura 1: microscópio óptico invertido com estágio porta amostra manual, do mesmo modelo utilizado no laboratório SPM do DFA [*5*].

## Automatização

Para a automatização do estágio foi utilizado o software LabVIEW®. Neste tipo de programação, diferentemente da programação em forma de texto, é criado um fluxo dos dados na forma de diagrama de blocos, além do painel frontal como interface para o usuário.

### (i) Painel Frontal

O usuário, ao inicializar o sistema de automatização terá no painel frontal (figura 2) a disponibilidade de usar as seguintes funções:

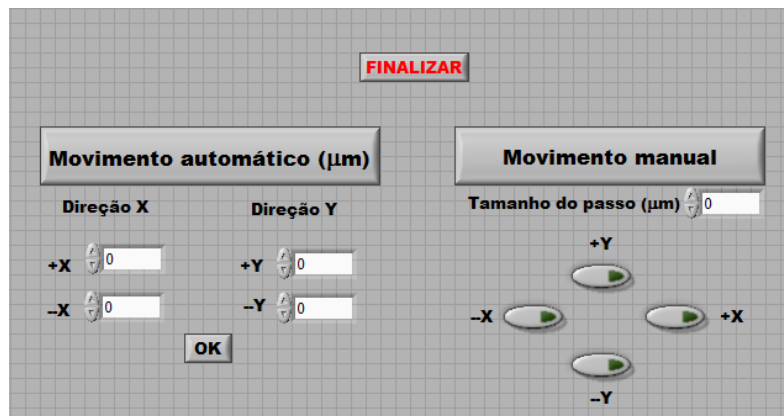



Figura 2: Painel frontal.

#### (a) Movimento automático.

Primeiramente o usuário habilita o ajuste automático da posição do estágio porta amostra. Logo após é necessário inserir o deslocamento desejado do estágio porta amostra (em µm) e clicar em OK. Ao clicar nesse botão os motores que realizam a movimentação da mesa começam a girar, levando o estágio porta amostra para a posição desejada.

**(b) Movimento manual.**

Após o posicionamento automático do estágio porta amostra, o usuário pode desejar fazer outros pequenos ajustes na posição e este será realizado pela função ajuste manual. Nela o usuário insere o tamanho do passo que a mesa dará (0.1mm, 0.3mm ou 1.0mm) e em seguida clica nos botões de deslocamento até chegar à posição desejada. Uma vez nela, o usuário pode seguir com a análise de sua amostra utilizando o ajuste manual com pequenos deslocamentos pré-determinados.

**(c) Finalizar.**

Ao concluir a análise, o usuário clica no botão finalizar que leva o estágio à posição inicial do sistema.

**(ii) Diagrama de blocos.**

Todas as funções que o usuário visualiza no painel frontal são realizadas no diagrama de blocos.

**(a) Movimento automático.**

Na figura 3, temos o diagrama de blocos para esta função que funciona da seguinte maneira. O botão ajuste automático é um condicional (verdadeiro/falso), assim ao ser acionado uma estrutura condicional começa a ser executada. Nela os valores de entrada (deslocamento +X, -X, +Y e –Y) são inseridos pelo usuário. Em seguida, uma operação de subtração é realizada entre os valores de deslocamentos positivos e negativos de uma mesma direção do movimento. O resultado dessa operação é então checado (maior/menor que zero); após essa verificação, se o botão OK (que ativa o motor) for pressionado, o sistema segue para um "loop for" que realiza o respectivo deslocamento na direção + (sentido horário do motor) se o valor checado anteriormente for maior que zero, ou na direção – (anti-horário) se for menor que zero; além de contar e guardar o tamanho do deslocamento por meio da função "shift register" representada pelo ícone .

O "loop for" dentro do descrito anteriormente é o que de fato realiza o deslocamento do motor e funciona da seguinte maneira. A cada vez que o loop "roda" ocorre um incremento em um contador numérico, esse valor é dividido por 2 e seu resto verificado se é igual a zero. Se a comparação for verdadeira o byte (11111abc) é enviado para a porta paralela, se for falsa o byte enviado será (11111pqr). Neste laço, teremos sempre a=0 e p=1. Essa alteração do valor do bit 2 a cada iteração do laço gera um sinal de onda quadrada responsável pelo giro do motor.

O conjunto de letras (abc/pqr) referem-se aos bits 2, 1 e 0 respectivamente, da porta paralela e esses bits representam para o "driver" e consequentemente para o motor as seguintes funções:

bit 0: habilita (1) / desabilita (0)

bit 1: sentido horário (0) / anti-horário (1)

bit 2: envia corrente (1) / não envia (0)

Obs.1: O valor 888 ligado a todas funções "Out Port.vi" refere-se ao endereço da porta paralela (0378h).

Obs. 2: A função “Out Port.vi” é uma função pronta do LabVIEW® que escreve na porta paralela, cuja entrada é o endereço da porta e o byte a ser enviado.

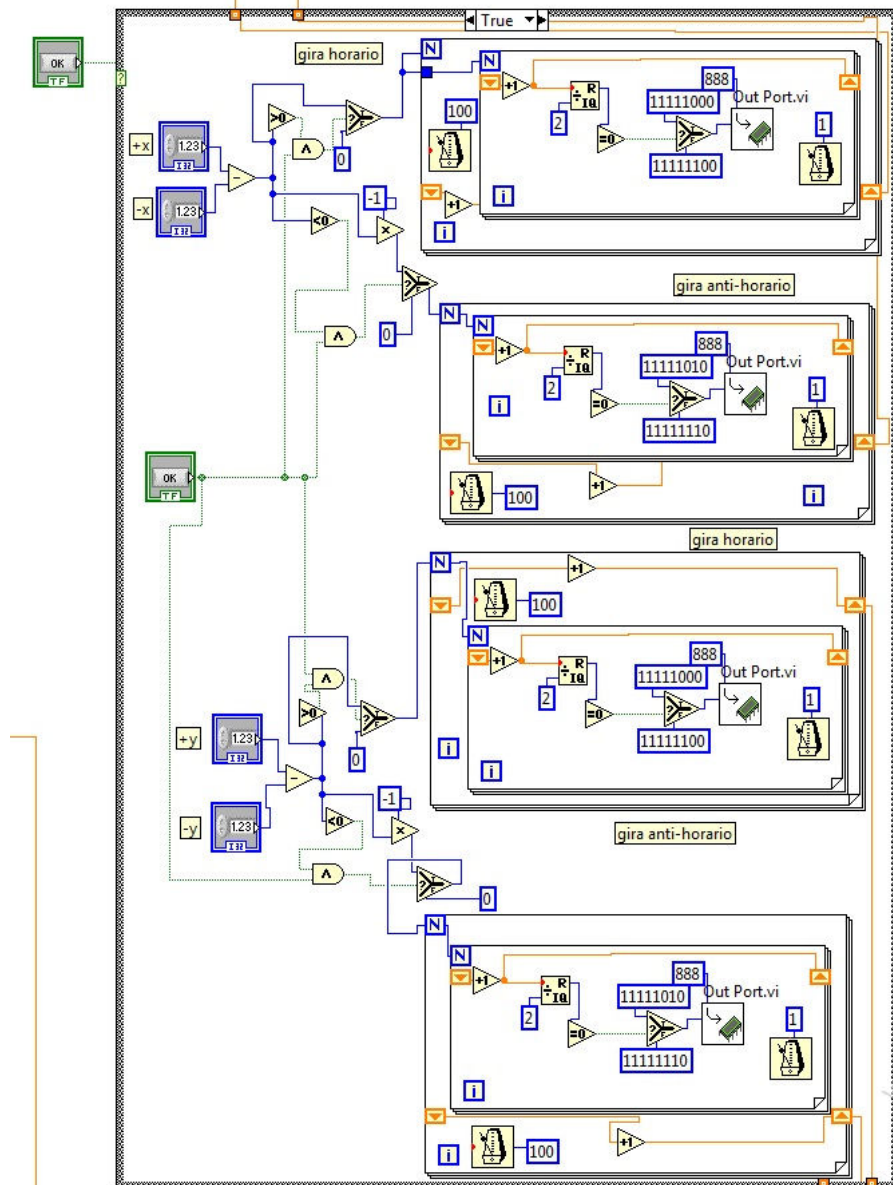



Figura 3: Diagrama de blocos para a função “Movimento automático”

**(b) Movimento manual.**

Após utilizar a função “Movimento automático”, o usuário desabilita o botão desta função e habilita o botão da função “Movimento manual” (figura 4). Ao fazer isso uma estrutura condicional passa a ser executada. Nela o usuário insere o tamanho do deslocamento desejado para o estágio porta amostra; logo após um “loop for” é executado a cada vez que um dos botões de deslocamento manual for pressionado pelo usuário.

Ao entrar no “loop for” duas funções distintas, porém acopladas, ocorrem. Uma delas é o envio do sinal para o motor, que ocorre da mesma forma como descrito na subseção anterior. Já a outra é um simples contador utilizado para guardar o número deslocamento realizado a fim de que ao final do trabalho o estágio possa voltar a sua posição inicial.

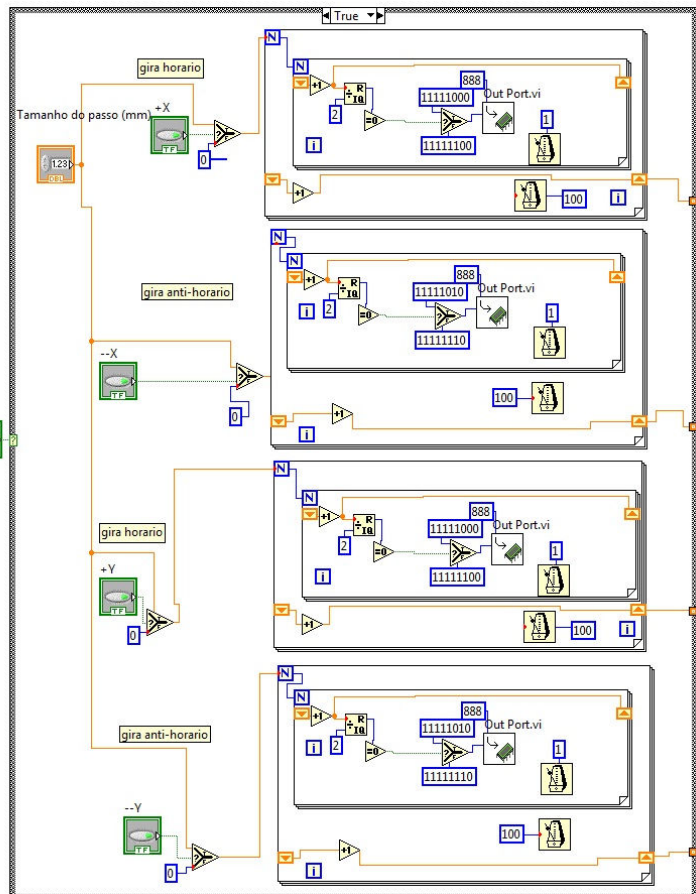



Figura 4: Diagrama de blocos para a função "Movimento manual".

**(c) Finalizar.**

Ao concluir o ajuste manual da posição e realizar pequenos deslocamentos utilizando esta mesma função a fim de analisar a amostra no microscópio óptico invertido, o usuário deve desabilitar o botão da função anterior e apertar o botão FINALIZAR, que faz com que o sistema pare de executar o "loop while" (figura 5) que continha as duas funções anteriores.

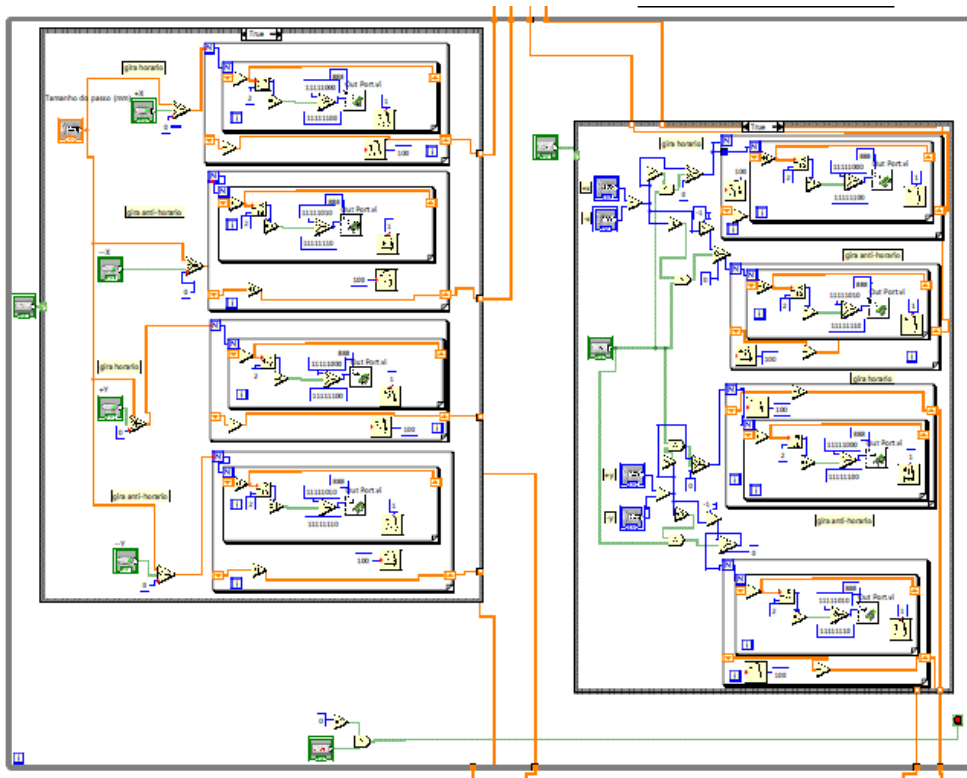



Figura 5: Loop while com botão indicando condição de saída.

Ao sair do “loop while”, inicia-se a função que retorna o estágio para a posição inicial (figura 6). Nesta função é feita a contagem total do deslocamento (manual e automático), isto é, para ambos os casos há uma subtração do valor do deslocamento (+) e (-). Em seguida o valor obtido para cada subtração é somado. Se este valor for maior que zero, o “loop for” que gira no sentido anti-horário é executado de acordo com o resultado obtido; se o valor for menor que zero, o “loop for” que gira no sentido horário é executado. Vale lembrar que este loop é o mesmo que faz o motor girar no caso do movimento automático.

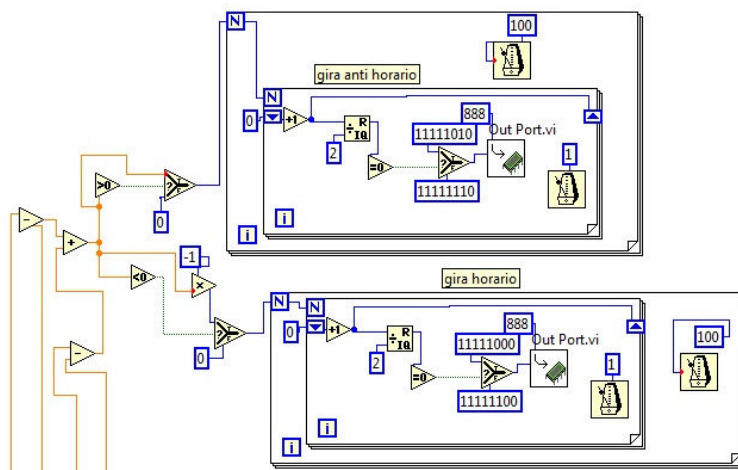



Figura 6: Função que realiza o retorno à posição inicial.

**(iii) Mecânica**

A parte mecânica do projeto, isto é, o acoplamento dos motores ao estágio porta amostra foi realizada por uma equipe da oficina mecânica do DFA, pois devido ao tempo disponível para a realização do projeto (quatro meses ou um semestre de curso), não seria possível desenvolver habilidades mecânicas para realizar estre trabalho com perfeição.

Em relação a transmissão dos dados da porta paralela aos motores, foram adquiridos dois "drivers" que realizam esse trabalho, um procedimento geralmente adotado a fim de poupar tempo no desenvolvimento da instrumentação. Por outro lado, para o desenvolvimento dessa eletrônica é necessário um estudo profundo do assunto o qual não seria possível dentro do tempo estimado do projeto.

Sendo assim, após a montagem obtemos o estágio porta amostra da figura 7 para realização dos testes. Precisa-se ressaltar que o estágio motorizado não foi o do microscópio invertido, mas sim de outro microscópio do laboratório SPM, pois como a peça do microscópio é única preferiu-se realizar um primeiro teste em um outro estágio mais antigo para depois utilizar o definitivo.

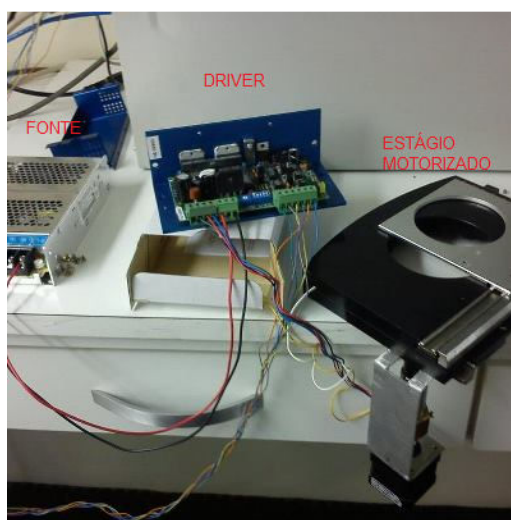



Figura 7: Estágio porta amostra motorizado.

## Conclusão

Na automatização do estágio porta amostra do laboratório SPM do DFA/IFGW foi necessário o aprendizado de uma nova linguagem de programação, uma linguagem gráfica na qual todo o fluxo dos dados é realizada por meio de um diagrama de blocos. Esta programação foi feita utilizando o software LabVIEW®, o qual é muito utilizado em automação. Com a ajuda de materiais bibliográficos e dos orientadores foi possível aprender a utilizar o software e desenvolver o ambiente e as funções necessárias para a execução dos movimentos desejados.

No inicio do trabalho houve uma grande dificuldade para pensar na lógica do programa, pois muito do que se sabia de programação escrita não se aplica à programação gráfica. Um exemplo bem marcante foi o fato que em LabVIEW® não é possível alocar um espaço na memória para uma variável e manipulá-la no decorrer do código como se faz em C. Essa dificuldade foi diminuindo ao longo do desenvolvimento do projeto de modo que nos últimos dias os ajustes na programação, os quais deveriam ser feitos de acordo com os testes executados, eram feitos sem grandes problemas.

Utilizando a montagem mecânica do estágio porta amostra, pode-se realizar testes e verificar que as funções criadas no software são realizadas de maneira satisfatória. Sendo assim já é possível enviar o estágio definitivo para a mecânica a fim de utilizá-lo para otimizar o processo de medidas do microscópio óptico invertido do laboratório SPM.

## Opinião do orientador.

**Relatório Parcial**

"Rafael tem se dedicado ao projeto e mostra avanços importantes do ponto de vista do desenvolvimento do software. Considero que seu trabalho se desenvolve de modo satisfatório, inclusive quanto ao cronograma do curso." - Mônica Alonso Cotta

**Relatório Final**

"Rafael desenvolveu um trabalho excelente, pois partiu de conhecimentos básicos de programação oferecidos no curso de graduação para a utilização do LabView, com segurança. Creio que os testes realizados até o momento com o motor e mesa serviram de motivação final, mostrando o objetivo concreto do trabalho em instrumentação." - Mônica Alonso Cotta

## Comentários do coordenador do curso.

**Projeto**

"Aprovado."

**Relatório Parcial**

"Aprovado."

## Referências


[1] http://www.maxwellbohr.com.br/downloads/robotica/mec1000_kdr5000/tutorial_eletronica_-_motor_de_passo.pdf
acesso em 08/11/2012

[2]http://www.rogercom.com/pparalela/IntroMotorPasso.htm
acesso em 08/11/2012

[3]http://en.wikipedia.org/wiki/X-Y_table
acesso em 08/11/2012

[4]http://pt.scribd.com/doc/53653354/Mesa-XY-e-Motor-de-Passo-1
acesso em 08/11/2012

[5]http://en.wikipedia.org/wiki/Inverted_microscope
acesso em 08/11/2012

[6]http://www.fotonica.ifsc.usp.br/arq/2010/Motor-Passo.pdf
acesso em 08/11/2012

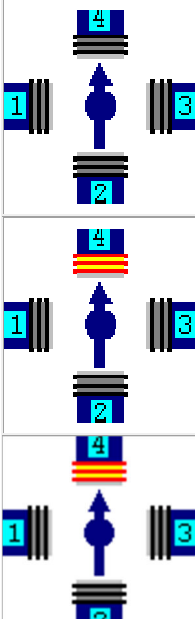
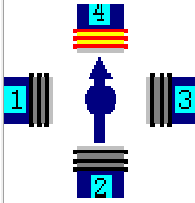
[7]LabVIEW Fundamentals
Manual que acompanha o LabVIEW

[8]BITTER, Rick; MOHIUDDIN, Taqi; NAWROCKI, Matt. LabVIEW advanced programming techniques

[9]http://microscopy-uk.org.uk/mag/artjul98/invert.html
acesso em 08/11/2012

[10]http://pt.kioskea.net/contents/elec/connecteur-prise-db25.php3
acesso em 08/11/2012

**Referência [2]**

CONTROLE DE MOTOR DE PASSO ATRAVÉS DA PORTA PARALELA
Para uso particular ou educacional.


*M*otores de passos são dispositivos mecânicos eletro-magnéticos que podem ser controlados digitalmente através de um hardware específico ou através de softwares.

*M*otores de passos são encontrados em aparelhos onde a precisão é um fator muito importante. São usados em larga escala em impressoras, plotters, scanners, drivers de disquetes, discos rígidos e muitos outros aparelhos.

*E*xistem vários modelos de motores de passos disponíveis no mercado que podem ser utilizados para diversos propósitos. Poderemos utilizá-los para mover robôs, câmeras de vídeo, brinquedos ou mesmo uma cortina.

*V*amos agora entender um pouco sobre o funcionamento dos motores de passo:

Três estados de um motor de passo

| | |
|---|---|
| | Desligado:<br>Não há alimentação suprindo o motor. Nesse caso não existe consumo de energia, e todas as bobinas estão desligadas.<br>Na maioria dos circuitos este estado ocorre quando a fonte de alimentação é desligada. |
| | Parado:<br>Pelo menos uma das bobinas fica energizada e o motor permanece estático num determinado sentido. Nesse caso há consumo de energia, mas em compensação o motor mantem-se alinhado numa posição fixa. |
| | Rodando:<br>As bobinas são energizadas em intervalos de tempos determinados, impulsionando o motor a girar numa direção. |

Modos de operação de um motor de passo

| | |
|---|---|
| | Passo completo 1 (Full-step)<br>-Somente uma bobina é energizada a cada passo;<br>-Menor torque;<br>-Pouco consumo de energia;<br>-Maior velocidade. |

Passo completo 2 (Full-step)
-Duas bobinas são energizadas a cada passo;
-Maior torque;
-Consome mais energia que o Passo completo 1;
-Maior velocidade.

Meio passo (Half-step)
-A combinação do passo completo1 e do passo completo 2 gera um efeito de meio passo;
-Consome mais energia que os passo anteriores;
-É muito mais preciso que os passos anteriores;
-O torque é próximo ao do Passo completo 2;
-A velocidade é menor que as dos passos anteriores.

*A* forma com que o motor irá operar dependerá bastante do que se deseja controlar. Tem casos em que o torque é mais importante, outros a precisão ou mesmo a velocidade. Essas são características gerais dos motores de passos, a maioria deles permitem trabalhar dessa forma. Ao trabalhar com motores de passos, precisamos saber algumas características de funcionamento como a tensão de alimentação, a máxima corrente elétrica suportada nas bobinas, o grau (precisão), o torque e muitos outros. As características importantes que deveremos saber para poder controlar um motor de passo seriam a tensão de alimentação e a corrente elétrica que suas bobinas suportam.

*V*eja nas tabelas abaixo, as seqüências corretas para se controlar um motor de passo:

Tabela 1 - Passo Completo 1 (Full-step)

| Nº do passo | B3 | B2 | B1 | B0 | Decimal |
|---|---|---|---|---|---|
| 1--> | 1 | 0 | 0 | 0 | 8 |
| 2--> | 0 | 1 | 0 | 0 | 4 |
| 3--> | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| 4--> | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |

Tabela 2 - Passo Completo 2 (Full-step)

| Nº do passo | B3 | B2 | B1 | B0 | Decimal |
|---|---|---|---|---|---|
| 1--> | 1 | 1 | 0 | 0 | 12 |
| 2--> | 0 | 1 | 1 | 0 | 6 |
| 3--> | 0 | 0 | 1 | 1 | 3 |
| 4--> | 1 | 0 | 0 | 1 | 9 |

Tabela 3 - Meio passo (Half-step)

| Nº do passo | B3 | B2 | B1 | B0 | Decimal |
|---|---|---|---|---|---|
| 1--> | 1 | 0 | 0 | 0 | 8 |
| 2--> | 1 | 1 | 0 | 0 | 12 |
| 3--> | 0 | 1 | 0 | 0 | 4 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 4--> | 0 | 1 | 1 | 0 | 6 |
| 5--> | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| 6--> | 0 | 0 | 1 | 1 | 3 |
| 7--> | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 8--> | 1 | 0 | 0 | 1 | 9 |

## A velocidade de um motor de passo

*P*ara se controlar a velocidade de um motor de passo envia-se uma seqüência de pulsos digitais (*veja Tabelas 1, 2* e *3*) num determinado intervalo. Quanto menor esse intervalo, maior será a velocidade em que o motor irá girar.

*N*ão defina intervalo menor que 10ms entre cada passo, o motor perderá o torque e em vez de rodar, irá vibrar.

Animação 1 - Velocidade do motor

## A direção (esquerda / direita) de um motor de passo

*P*ara mudar a direção de rotação do motor, simplesmente inverta a seqüência dos passos conforme os exemplos abaixo:

Tabela 4 - Passo completo 1 (direita)

| Nº do passo | B3 | B2 | B1 | B0 | Decimal | Direita |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1--> | 1 | 0 | 0 | 0 | 8 | |
| 2--> | 0 | 1 | 0 | 0 | 4 | |
| 3--> | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | |
| 4--> | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | |

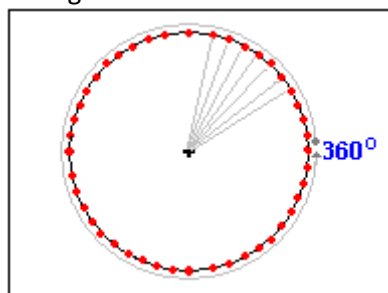
Tabela 5 - Passo completo 1 (esquerda)

| Nº do passo | B3 | B2 | B1 | B0 | Decimal | Esquerda |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1--> | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | |
| 2--> | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | |
| 3--> | 0 | 1 | 0 | 0 | 4 | |

## A precisão de um motor de passo

Suponhamos que temos um motor de passo com as seguintes características:

- Voltagem: 12 v;
- Corrente: 340 mA;
- Resistência da bobina: 36 ohm;
- Graus: 7.5º

Figura 1 - Precisão de 7.5º

Na figura acima a distância entre um ponto vermelho e outro é de 7.5º.

Para sabermos quantos passos são necessários para que o motor dê um giro de 360º, faça os seguintes cálculos:

PassosPorVolta = 360º / 7.5º;
PassosPorVolta = 48.

Portanto, um motor com precisão de 7.5º, precisa dá 48 passos para completar uma volta.

## Construindo o hardware para conectar o motor de passo

Para acionarmos um motor de passo precisamos de um hardware específico, chamado driver. Você pode fazer um driver usando transistores de potência como os *BD135*, *DB241* etc., A maneira mais fácil é adquirir drivers prontos, como o ULN 2003 ou ULN2803, que nada mais são que *arrays de transistores Darlington* que podem controlar correntes de até 500mA, estão em forma de circuitos integrados prontos para serem usados em interfaces que necessitem controlar motores de passos, solenóides, relês, motores DC e muitos outros dispositivos.

Veja nas figuras abaixo as pinagens e as características desses CIs.

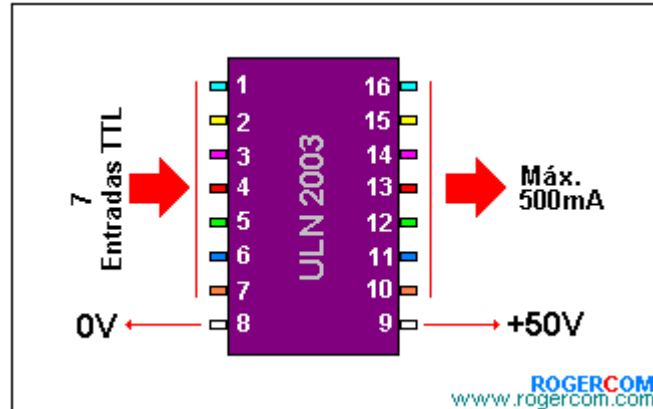
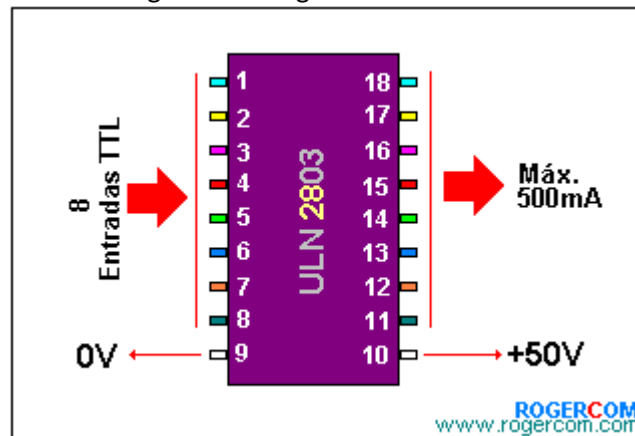
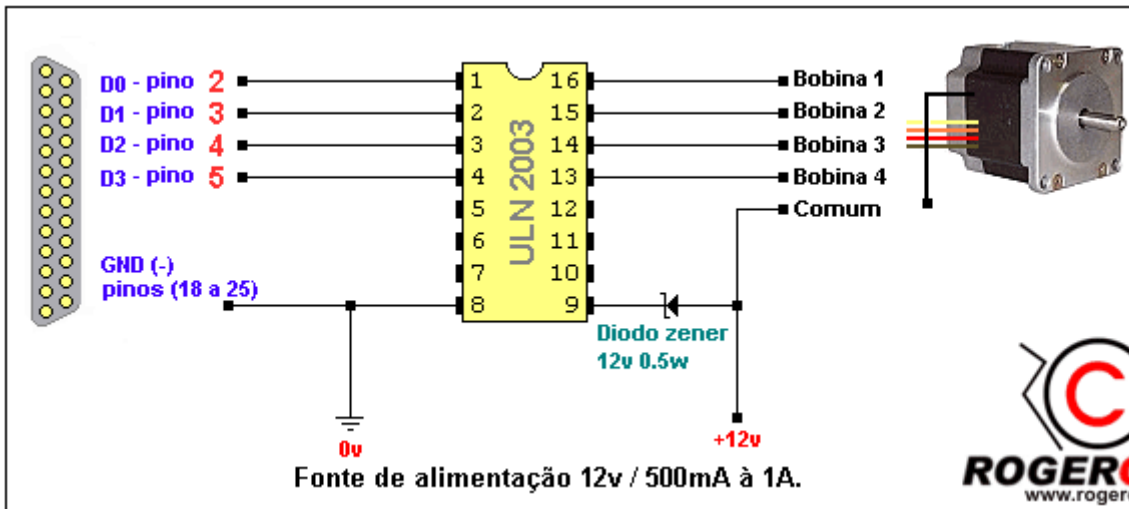
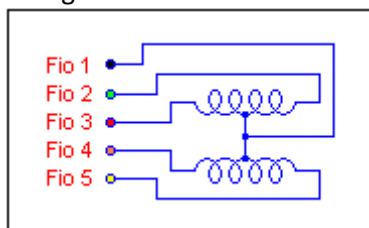
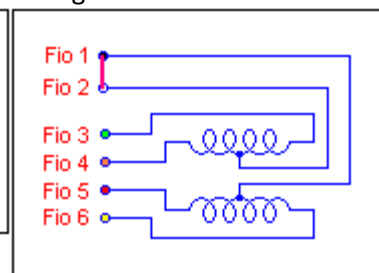
Figura 2 - Pinagens do CI *ULN2003*

*O* CI ULN 2003 tem 7 entradas que podem controlar até 7 saídas. Com ele poderemos controlar um motor de passo. Se desejarmos controlar 2 motores, usaremos dois CIs ULN 2003, ou somente um CI ULN 2803.

Figura 3 - Pinagens do CI *ULN2803*

*O* CI ULN 2803 tem 8 entradas que podem controlar até 8 saídas. Com ele poderemos controlar até 2 motores de passo simultaneamente.

*T*anto o CI ULN2003 como o ULN 2803 trabalham com correntes de 500mA e tensão de até 50v. Não utilizem motores de passo que consumam mais que esse valor, se por ventura usarem, poderão queimar os CIs. Veja antes qual a amperagem de trabalho do motor. Prefira motores que consumam menos de 500mA, para não sobrecarregar o CI, a não ser que utilizem outros modelos.
mentação que terá que fornecer a amperagem necessária. Trabalhe com fonte de alimentação que forneça mais que 500mA. Por exemplo, se desejássemos controlar 3 motores de passos, todos no mesmo circuito, cada um consumindo 340mA, seria necessário uma fonte de alimentação que fornecesse correntes acima de 1A.

Figura 1 - Controle de 1 motor de passo usando o CI *ULN 2003*

Descobrindo as características elétricas de um motor de passo,
quando só sabemos a voltagem

*P*or falta de informações sobre as características elétricas de um motor de passo, na maioria das vezes abandonamos este como sucata. Se você pelo menos sabe a voltagem de operação de um motor de passo, já é uma informação muito importante para que possa colocá-lo para funcionar, e usá-lo nos projetos próximos projetos.

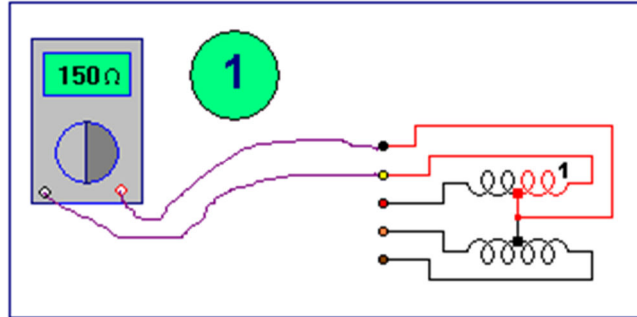
*A*s características elétricas que precisamos saber sobre um determinado motor de passo para faze-lo funcionar, seriam a tensão elétrica, a corrente ou a resistência das bobinas.

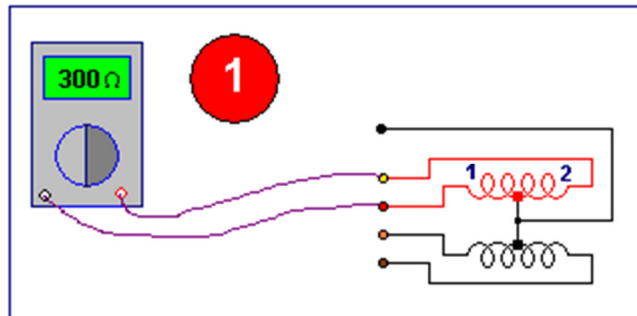
*C*omo exemplo, imaginem que a característica elétrica que sabemos sobre um determinado motor de passo é sua voltagem, nesse caso 12v. Somente a voltagem não é suficiente, precisamos saber a amperagem (quanto de corrente o motor consome) para que ele funcione perfeitamente com a nossa interface. Então temos que descobrir a corrente.

*T*ambém precisamos saber dentre os vários fios do motor de passo, qual é o fio 'comum', aquele que será ligado aos 12v da fonte de alimentação. Para descobri-lo, faça as medições conforme a Animação 2 e a Animação 3.

Alguns motores tem 6 fios, 4 são para controlar o motor e os outros 2 são 'comuns'. A resistência entre esses 2 fios são infinitas, isso porque eles estão isolados, o que temos a fazer é juntá-los, formando um único terminal 'comum' onde será ligado ao positivo da fonte de alimentação. Quando um motor tem 6 fios fica muito mais fácil descobrir quais são os 'comuns'.

Veja nas animações abaixo como descobrir o fio comum:

Animação 2 - Quando encontramos o fio comum, a resistência é a menor possível

*C*om um multímetro na escala de resistência, fixe uma das pontas de prova em qualquer um dos fios do motor e com a outra comece a medir a resistência em cada fio. Nos fios que encontrar a menor resistência, um desses é o 'comum', onde será ligado os 12v.

Animação 3 - Quando não encontramos o fio comum a resistência é o dobro

*N*as medições feitas na Animação acima, nenhum dos fios medidos era o 'comum'. Portanto, a resistência medida será mais ou menos o dobro da resistência medida na *Animação 2*.

Obs.: Nas medições só existirão dois valores de resistências: uma resistência baixa e uma outra alta.

*A* menor resistência medida indica a resistência de uma única bobina, e esse valor é uma das características elétrica do motor.

*V*amos supor que o menor valor medido foi 36 ohm de resistência. Aplicando a lei de Ohm temos:

$V = R.I$
$12 = 36.I$
$I = 12/36$
$I = 340mA$

*P*ortanto, o motor deve ser alimentado com 12v / 340mA, podendo ser controlado através de um dos CIs ULN 2003 ou ULN 2803, sem nenhuma restrição, isso porque 340mA está abaixo dos 500mA que os CIs podem controlar.

*C*om todas essas informações já é possível saber qual o fio do motor ligar os 12v da fonte. Agora faça download do programa Lptmotor e do manual de utilização para praticar suas experiências.

**Referência [3]**

## X-Y table

X-Y tables help provide horizontal motion for automated machinery such as assembly robots in manufacturing facilities. Robotic arms and other automated machinery have only a limited range of motion while their bases remain stationary; X-Y tables allow these basis to move horizontally along X and Y axis. Also known as XY stages, XY tables are motorized linear slides with linear motion based in bearings which are driven by a drive mechanism, typically a linear motor. XY tables are built and configured to provide high-performance positioning along multiple axis.

Applications

Serving industries including general machinery, pharmaceutical, manufacturing and semiconductor, XY tables offer precision-controlled automated movement. XY tables are broadly used in mechanical processes and applications including material handling, industrial automation equipment, machinery building and automated measurement.

## Construction

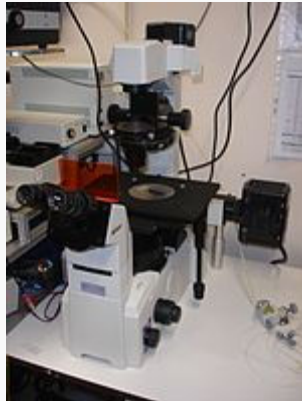
XY tables are flat surfaces mounted on ball bearing slides or roller slides with multiple linear bases and are composed of forcers and platens. The forcer glides over the platen on frictionless air bearings and moves continuously in a linear motion across the platen. To create multiple axis, linear bases are often stacked on top of one another, with the top "Y" axis acting both as a carriage to the bottom base and as the base which holds the table. Adjustable gibs can be attached on both axis. These types of XY tables, used frequently for the movement of robotic, are often called "positioning tables". Materials used to construct XY tables include stainless steel and cast iron as well as bronze for bearings and aluminum for frames.

## Types

Variations among XY tables include the ways and the drive mechanism. The ways determine load capacity, straight-line accuracy, and stiffness, or durability, while the drive mechanisms determine smoothness and speed. In general, XY tables require very little maintenance, and are considered to be highly accurate, easy-to-use and lightweight. However, depending on the weight of the load, ball bearings within XY ball bearing tables and slides can acquire a significant amount of wear and may need to be replaced regularly.

**Referência [5]**

Inverted microscope

An inverted microscope for tissue culture.

An inverted microscope for fluorescence microscopy.

An inverted microscope with an LCD display instead of occulars for fluorescence microscopy.

An inverted microscope is a microscope with its light source and condenser on the top, above the stage pointing down, while the objectives and turret are below the stage pointing up. It was invented in 1850 by J. Lawrence Smith, a faculty member of Tulane University (then named the Medical College of Louisiana). [1]

Inverted microscopes are useful for observing living cells or organisms at the bottom of a large

container (e.g. a tissue culture flask) under more natural conditions than on a glass slide, as is the case with a conventional microscope.

Inverted microscopes are also used in micromanipulation applications where space above the specimen is required for manipulator mechanisms and the microtools they hold, and in metallurgical applications where polished samples can be placed on top of the stage and viewed from underneath using reflecting objectives.

The stage on an inverted microscope is usually fixed, and focus is adjusted by moving the objective lens along a vertical axis to bring it closer to or further from the specimen. The focus mechanism typically has a dual concentric knob for coarse and fine adjustment.

Depending on the size of the microscope, four to six objective lenses of different magnifications may be fitted to a rotating turret known as a nosepiece. These microscopes may also be fitted with accessories for fitting still and video cameras, fluorescence illumination, confocal scanning and many other applications.

**Referência [9]**

Inverted Microscopes

*by David Goldstein, Seattle, Washington, USA*

---

*Inverted microscopes have some advantages and disadvantages compared to a conventional microscope. However, if you can overcome the major disadvantage (the cost of the thing), the advantages are substantial for observing living microorganisms.*

---

*Introduction*

Recently, I became the proud owner of an Olympus CK2 Inverted Microscope with the result of some damage to my bank balance. However, I find myself using it more and more often in preference to a conventional microscope. The reasons for this are discussed in this article. The Olympus CK2 with and without a trinocular head are illustrated in the photograph to the right. I have the model to the right with the trinocular tube.I should preface my comments by the limitations on my knowledge. I am hardly an expert on the subject of inverted microscopes. My entire experience with inverted microscopes is limited to the several weeks I have spent with my CK2 (which I understand Olympus is no longer making in preference to some newer and more expensive CK models). I have not tried other inverted microscopes although I have a brochure for Olympus' much more expensive infinity corrected (IX) models.

---

*What is an inverted microscope?*

As the name suggests, an inverted microscope is upside down compared to a conventional microscope. The light source and condenser are on the top above the stage pointing down. The objectives and turret are below the stage pointing up. The only things that are "standard" are that (1) a specimen (as dictated by the laws of gravity) is placed on top of the stage and (2) thank heavens, the binocular or trinocular tube is not upside down but in the standard position pointing at a conventional viewing angle. As a result, one is looking up through the bottom of whatever is holding the specimen and is sitting on the stage rather than looking at the specimen from the top, typically through a cover glass, as on a conventional microscope.

The following illustration is taken from the owner's manual and identifies the various components:

---

What are the Advantages of an Inverted Microscope?

Before getting to the advantage of an inverted over a traditional light microscope, bear with me for a moment while I discuss the advantage of a light microscope over an electron microscope because the inverted microscope carries this advantage one step further. The critical advantage of light microscopy over electron microscopy is the ability to observe living organisms and tissue. The various types of electron microscopes require that the specimen be thoroughly prepared (which may include coating it with gold) and placed in a vacuum chamber for observation. Obviously, whatever life is in the specimen does not survive this process. Light microscopes allow one to observe a live microorganism such as a protozoan (now protist) as it goes about its various life functions. While an electron microscope has significantly greater magnification and resolution than a light microscope (and some types can produce spectacular 3D images), it only produces a snapshot in time of a dead subject.

As anyone who watches microorganisms for minutes and hours at a time can testify, the moving picture that unfolds before the observer of a live organism can reveal much about the organism and its behavior that the momentary snapshot of a dead organism will never show, no matter how detailed. Some organisms change their shape so much from one second to the next that photomicrographs taken seconds apart of a live organism may look like they are of different organisms. It is for this reason among others that light microscopy is well and alive as a research tool despite the advantages of electron microscopy.

A traditional light microscope requires that the specimen be placed on a glass slide, typically under a cover slip (although there are objectives designed for use without a cover slip). This usually means removing a small sample from the culture and placing it in the artificial environment created by the slide and cover slip. The temperature and oxygen content of the sample may change quickly from that of the culture as a result. Further, the organisms will be under increased pressure and in an unnaturally confined space as a result of the cover slip. Also, the sample will quickly dry out unless repeatedly replenished with water. The loss of water by evaporation and the periodic adding of water may change the salinity of the sample frequently. These changes impose severe stress on microorganisms that can affect their behavior and/or kill them in a short time.

Some partial solutions to these problems include making a small chamber on the slide or using a slide with a well or chamber built in and sealing it to prevent evaporation. While this keeps the sample from drying out quickly, the inability of the sample to exchange gasses with the air means that within a day, a few days or a week, the organisms will die. Another partial solution is to use the hanging drop technique in deep well slide which prevents pressure and reduces confinement but again is fairly temporary.

Therefore, observations through a standard microscope are also limited in time. Its images are not the frozen image of an electron microscope but neither can it easily allow study over long duration (it is true that another technique available is to use special reservoir slides with built-in water chambers that allow the specimen to remain active for long periods but this still requires specimen preparation and creates a relatively limited environment for the life on the slide.

Would it not be nice is if you could observe microorganisms in a large container under more natural conditions. This is what the inverted microscope allows and by doing so, it extends the advantage of the light microscope. Because of its configuration, You can place an entire culture or large sample in a relatively large container such as a petri dish and look at the entire contents of the container under more natural (although still admittedly artificial) and less stressed conditions. Such a sample may sustain life over a much longer period. The cover of

the container slows evaporation greatly while at the same time allowing some gas exchange. The larger quantity of water is less subject to quick temperature changes although obviously, if stored in a room, the water will acquire the room's temperature. One sample of pond "scum" I have looked at over several weeks still sustains life although the character of that life has changed significantly over time from when I first collected the sample. During this period, as the environment in the petri dish changed, the life that it could support changed but there is still a great deal of varied life.

Since inverted microscopes are often used for looking at living organisms and tissue that may be killed by staining, they often provide for "optical staining" through the use of phase contrast or DIC. My CK2 has phase contrast. Rather than use the more sophisticated phase contrast condenser used on a standard microscope, there is a simple slider that goes through the condenser and holds the necessary phase rings. Only the phase rings for the lower power objectives (e.g. 10x and 20x) are centerable by a fairly crude process (although it works). The phase ring for the 40x objective is not but seems to work fine.

---

What are the Disadvantages of an Inverted Microscope

The first disadvantage is cost. Inverted microscopes are not anywhere near as common as a microscope with a standard configuration so there is less competition both in the new and used markets. Further, they are more complex and therefore expensive to build. One has to get an image that is pointing down from underneath the stage up to the eyepieces in front of the microscope and pointing up. One does not have to be an optical engineer to see the complexities of this. Further, unlike a standard microscope where focusing is done by simply moving the stage or entire optical tube up and down, at least on my CK2, only the turret assembly moves up and down. All of this adds complexity and cost to the microscope.

On a standard microscope, higher power objectives are optimized for a specific thickness of the cover glass which is quite thin and uniform. With an inverted microscope, you may be looking through the bottoms of different containers with various thicknesses and variable optical characteristics. With higher power objectives, it is advantageous to be able to correct for the differences in thickness and on my 40x objective, there is a correction collar which allows you to correct for container thicknesses over a wide range (correction collars are also available on 20x objectives although mine does not have one and the images seem fine). However, again this adds to the complexity and cost of the objective.

Also, remember that standard high power objectives typically have a very short working distance and must get very close to the subject to focus. This is why they are often protected by a retracting nosepiece to avoid damaging the objective if it accidently comes in contact with the cover slip and slide. Because of the greater thickness of the bottom of the container you are looking through (compared to a cover slip), a standard higher power objective may not be able to get close enough to the subject to focus. Therefore the higher power objectives on an inverted microscope must be corrected for a much longer working distance. These objectives are designated at least by Olympus as "LWD" (long working distance) and "ULWD" (ultra-long working distance) objectives. Again, this adds to the cost. Further, even with all these corrections, they cannot make up for the relative lack of optical clarity and uniformity of looking through a good cover slip and therefore, the quality of the image may not be as good as looking through a conventional microscope with comparable objectives (note that plastic

disposable petri dishes are usually more suitable than most glass petri dishes because they are thinner, more uniform and therefore optically superior to the standard glass dish).

However, an inverted microscope is also excellent for viewing pond life under a cover slip. The slide is inverted with the slip facing the objective (the cover slip stays attached to the slide despite the downward pull of gravity because of the surface tension created by the drop of water). This eliminates the compression problems experienced with upright stands. In addition, protozoa and other invertebrates that normally move along the substrate quickly move to the upper surface of the slip, providing a much better optical link with the objective. In fact, this is one reason the inverted microscope is such a hit with cell biologists.

The condenser also must allow for an unusually long working distance to allow larger containers to be placed on the stage and on the CK2 is designated as ULWD. I assume as a result of the necessary correction, it has an "N.A." (numerical aperture) of only .3 and the 20 watt halogen light source which is more than adequate on my standard microscope at high power is just adequate with the 40x objective. This makes photomicrography more difficult. I wish the CK2 had a 30 watt or higher light source (as do Olympus' more expensive models). Surprisingly, I have not noticed much difference in brightness or quality of the image between viewing a petri dish with and without its cover (even with condensation on the inside of the cover). As a result, I tend to leave the cover on when I am viewing.

Another disadvantage is that the maximum magnification available on an inverted microscope is more limited. Typically 40x is the highest powered objective (although Olympus has a 60x objective available on its more expensive model). Oil immersion 100x objectives are often not available (although Olympus has one for its IX series of infinity corrected inverted microscopes). I do not know whether this is because of the difficulty of maintaining an oil immersion drop upside down or the difficulty of correcting such a higher power objective for long working distances.

Finally, a mechanical stage is an extra-cost option on my model and finding petri dishes or other containers that exactly fit the holders that come with it are a little bit of chore. However, one can become adept after some practice at moving the container by hand without the mechanical stage even at high power. This allows following a microorganism more easily through a diagonal or zigzag course through the immensity of a 100 mm diameter petri dish that may have a culture with a depth of several millimeters.

However, whatever disadvantages an inverted microscope has, these are far outweighed by the fundamental advantage of an inverted microscope to accept a container with a large and relatively long-lived diverse culture of live organisms without any preparation.

---

*A Possible Lower Cost Introduction to Inverted Microscopes*

As prior *Micscape* articles on field microscopes have noted, both the currently available Swift field microscope as well as the no longer produced Nikon Model H field microscopes are forms of inverted microscopes. Nikon even offered a special 100x oil immersion objective for its microscope. The McArthur microscope is similar and may also still be available (click on "Nikon Model H" and "McArthur to go the applicable Micscape articles). The slide is placed above the objectives and one looks up through the bottom of the slide. They may provide a less expensive means of utilizing an inverted microscope if there is enough room for a petri dish or

other container on the small stage between the stage and the light source (apparently the Nikon does not have much space). Note that the Swift is by no means inexpensive and I suspect the others, if available on the used market are also in same category. Further, I have not had experience with any of them.

**Referência [10]**

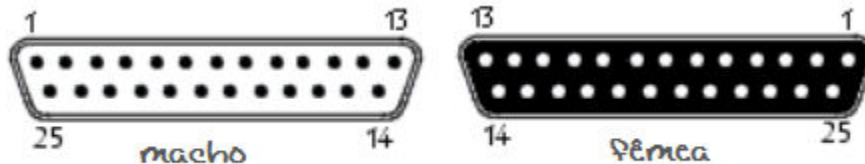
Conector DB25

Fichas DB25

O conector DB25 (inicialmente chamado DE-25) é uma ficha analógica, comportando 25 pinos, da família dos conectores D-Subminiaturas (D-Sub ou SubD).

À imagem do conector DB9, o conector DB25 serve essencialmente para as ligações séries, permitindo a transmissão de dados assíncrona de acordo com a norma RS-232 (RS-232C).

É utilizado igualmente para as conexões por porta paralela, servindo inicialmente para a ligação dasimpressoras, daí a sua denominação "porta impressora" (notado LPT).

Assim, para não se confundirem, as portas séries DB25 nos computadores são geralmente tomadas machos, enquanto que os conectores da porta paralelas são tomadas DB25 fêmeas.

Para uma ligação série

| Número | Nome | Designação |
|---|---|---|
| 2 | TXD - Transmit Data | Transmissão de dados |
| 3 | RXD - Receive Data | Recepção de dados |
| 4 | RTS - Request To Send | Pedido de emissão |
| 5 | CTS - Clear To Send | Empréstimo a emitir |
| 6 | DSR - Data Set Ready | Dados prontos |
| 7 | GND - Signal Ground | Massa lógica |
| 8 | CD - Carrier Detect | Deteção de portador |

| | | |
|---|---|---|
| 20 | DTR - Data Terminal Ready | Terminal pronto |
| 22 | RI - Ring Indicator | Indicador de campainha eléctrica |

Para uma ligação paralela

| Número | Nome | Designação |
|---|---|---|
| 1 | _STR - Strobe | Balayagen |
| 2 | D0 - Data bit 0 | bit de dados 0 |
| 3 | D1 - Data bit 1 | bit de dados 1 |
| 4 | D2 - Data bit 2 | bit de dados 2 |
| 5 | D3 - Data bit 3 | bit de dados 3 |
| 6 | D4 - Data bit 4 | bit de dados 4 |
| 7 | D5 - Data bit 5 | bit de dados 5 |
| 8 | D6 - Data bit 6 | bit de dados 6 |
| 9 | D7 - Data bit 7 | bit de dados 7 (peso forte) |
| 10 | ACK - Acknowledgement | Pagamento |
| 11 | Busy | Ocupado (leitura dos dados) |
| 12 | Paper Out | Sem papel |
| 13 | Select | Selecção |
| 14 | Auto feed | Salto de página |
| 15 | Error | Erro |

| 16 | Reset | Reiniciar |
|---|---|---|
| 17 | Select Input | Selecção da entrada |
| 18 | GND | |
| 19 | GND | Massa |
| 20 | GND | Massa |
| 21 | GND | Massa |
| 22 | GND | Massa |
| 23 | GND | Massa |
| 24 | GND | Massa |
| 25 | GND | Massa |